

2. INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

2.1. ASPECTOS HISTÓRICOS Y PERSPECTIVAS DE LA TAXONOMÍA BACTERIANA.

Posiblemente, con la aparición de la segunda edición del tratado *The Prokaryotes*, publicado hace catorce años, desglosado en cuatro volúmenes y editado por A. Balows, H.G.Trüper, H. Dworkin, W. Harder y K.H. Schleifer (1991), se ha consolidado una nueva visión, un nuevo enfoque, en el estudio de la taxonomía bacteriana. Según sus autores trata de la ecofisiología, aislamiento, identificación y aplicaciones de la biología de las bacterias.

El conocimiento del mundo bacteriano y su organización de acuerdo a un modelo filogenético es un anhelo tan antiguo como la propia bacteriología. Con la llegada de las técnicas de secuenciación molecular se pudo disponer de las herramientas adecuadas para construir un modelo taxonómico fundamentado en una auténtica filogenia. Como afirman los autores de este tratado, la Microbiología es una ciencia sin pasado. A diferencia de la Zoología y la Botánica, la Microbiología carece de una dimensión histórica basada en el conocimiento de la evolución estructural de sus representantes. No se disponía de una historia evolutiva.

Con todo, la ordenación familiar de la antigua clasificación con sus “engañosas” connotaciones proporcionó el camino hacia un valioso sistema filogenético; por ello, y aunque hemos comenzado este breve relato histórico a partir de la aportación rigurosa más moderna, es necesario presentar un modesto recorrido de la taxonomía a partir de sus inicios.

El siglo XIX fue testigo de la transformación de un sistema de clasificación basado en la idea de Linneo que había conseguido una sistemática filogenética para los metazoos. El éxito de este sistema residía en la complejidad morfológica de animales y vegetales, el estudio de la ontogenia y el conocimiento de los fósiles existentes. Ante estas circunstancias, los primeros microbiólogos reconocieron las ventajas de esta clasificación e intentaron trasladarla hasta los microorganismos, pero la simplicidad morfológica de los microorganismos, las características de su desarrollo y la ausencia de fósiles condujeron estos planteamientos hacia un completo fracaso.

En tiempos de L. Pasteur y F. Cohn los bacteriólogos luchaban frente a cuestiones básicas relacionadas con la naturaleza de las bacterias, su pleomorfismo (con frecuencia se trabajaba, involuntariamente, con cultivos mixtos), la dificultad de su aislamiento y cultivo, así como la investigación de un número suficiente de caracteres que proporcionasen diferenciaciones útiles para su identificación. Era evidente que no resultaba importante establecer un sistema taxonómico natural de clasificación; probablemente lo más interesante en aquellos momentos se basaba en la ubicación de las bacterias en el 3^{er} Reino de Haeckel (Monera), así como la proximidad de las mismas respecto a las algas azules. De acuerdo a estos principios se construye un sistema simple de formas genéricas cuya base era la fisiología y morfología de las bacterias.

Al acabar la centuria, y coincidiendo con la descripción de numerosas bacterias patógenas, el conocimiento de la microbiología experimenta un avance importante. En este sentido, microbiólogos como Kluyver y Van Niel aportan numerosos datos que se traducen en un estudio más riguroso de la taxonomía bacteriana; no obstante, este conocimiento se basa más en la morfología que en la fisiología porque para ellos las bacterias mostraban un gran rango de adaptación poco predecible a distintos medios.

En realidad podía hablarse de dos sistemas de clasificación bacteriana que abarcaban dos finalidades distintas; la clasificación natural, análoga a la utilizada en organismos superiores y que agrupaba a los microorganismos de acuerdo a su semejanza y presuntiva posición filogenética y, en segundo lugar, la clasificación utilitaria que pretendía caracterizar a cada especie en función de las demás. Como puede verse, no era fácil conseguir la unidad entre estos dos modelos de clasificación. No había una separación neta entre los distintos tipos bacterianos ni en caracteres morfológicos ni en caracteres fisiológicos. No se conocían mecanismos de intercambio genético claros que situaran en unos límites definidos a una especie bacteriana concreta, y por supuesto, resultaba muy complicado situar en zonas geográficas determinadas a la mayoría de las especies bacterianas conocidas porque eran prácticamente cosmopolitas.

Al revisar los principales sistemas de clasificación bacteriana, los primeros microbiólogos no distinguían entre bacterias y protozoos.

En 1786 Müller distingue solamente dos clases de *Animálculos* : *Monas* y *Vibrio*.

En 1838 Ehrenberg distingue cinco géneros bacterianos que incluye en el Reino Animal. Este autor habla de *Bacterium*, *Vibrio*, *Spirillum*, *Spirochaeta* y *Spirodiscus*, según las bacterias se presentaran en forma de bacilos rígidos, bacilos flexibles, espirales rígidas, espirales flexibles y espirales aplastadas respectivamente.

En 1872, Cohn, asigna por vez primera a las bacterias una naturaleza vegetal y distingue 6 géneros: *Micrococcus* (esféricos), *Bacterium* (bacilos cortos), *Bacillus* (bacilos largos), *Vibrio* (bacilos largos ligeramente curvados), *Spirillum* (espirales rígidas) y *Spirochaeta* (espirales flexibles).

En 1895 Migula distingue dos órdenes, el de las *Thiobacterales* o bacterias del azufre y el orden de las *Eubacterales* o bacterias verdaderas; las *Eubacterales* las ordena a su vez en 4 familias:

1. Familia *Coccaceae*, que comprende las formas esféricas y que a su vez clasifica de acuerdo a la movilidad:
 - Inmóviles. Comprendían tres géneros:
 - 1) *Streptococcus* si se dividían en un solo plano.
 - 2) *Micrococcus* si se dividían en dos planos.
 - 3) *Sarcina* si se dividían en tres planos.
 - Móviles. Comprendían dos géneros:
 - 1) *Planococcus* si se dividían en dos planos.
 - 2) *Planosarcina* si se dividían en tres planos.
2. Familia *Bacteriaceae*, que incluye las formas bacilares y que clasifica a vez en función de la movilidad en los siguientes géneros:
 - 1) *Bacterium* que corresponde a bacilos inmóviles.
 - 2) *Pseudomonas* si la movilidad es monotrica.
 - 3) *Bacillus* si la movilidad es peritrica.

3. Familia *Spirillaceae*, que comprende las formas curvadas y en la que distingue los siguientes géneros:

- 1) *Spirosoma* que corresponde a formas inmóviles.
- 2) *Microspira* que incluye formas móviles con uno o dos flagelos polares.
- 3) *Spirillum* o formas móviles que contienen un haz de flagelos.
- 4) *Spirochaeta* donde se ubican los bacilos con movimiento flexuoso.

4. Familia *Chlamydobacteriaceae*, que agrupa a las bacterias formadoras de vainas filamentosas y que clasifica a su vez en los siguientes géneros:

- 1) *Chlanydrothrix* aquellas bacterias que no forman ramificaciones.
- 2) *Crenothrix* que comprende las formas que se ensanchan en un extremo.
- 3) *Phragmidiothrix* si la vaina es gruesa y sin ramificaciones.
- 4) *Sphaerotilus* que comprende a las bacterias formadoras de vainas delgadas y con ramificaciones.

Esta clasificación fue utilizada principalmente por bacteriólogos no médicos.

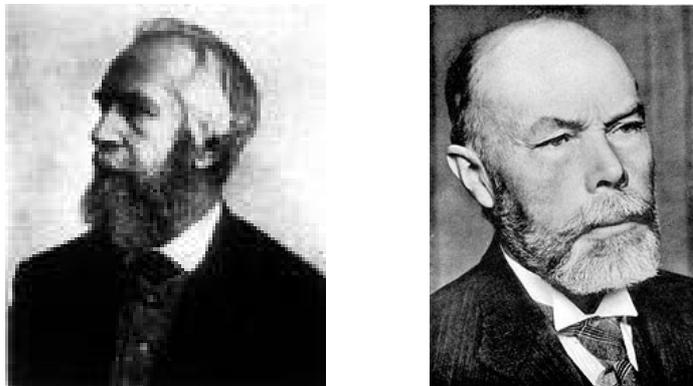
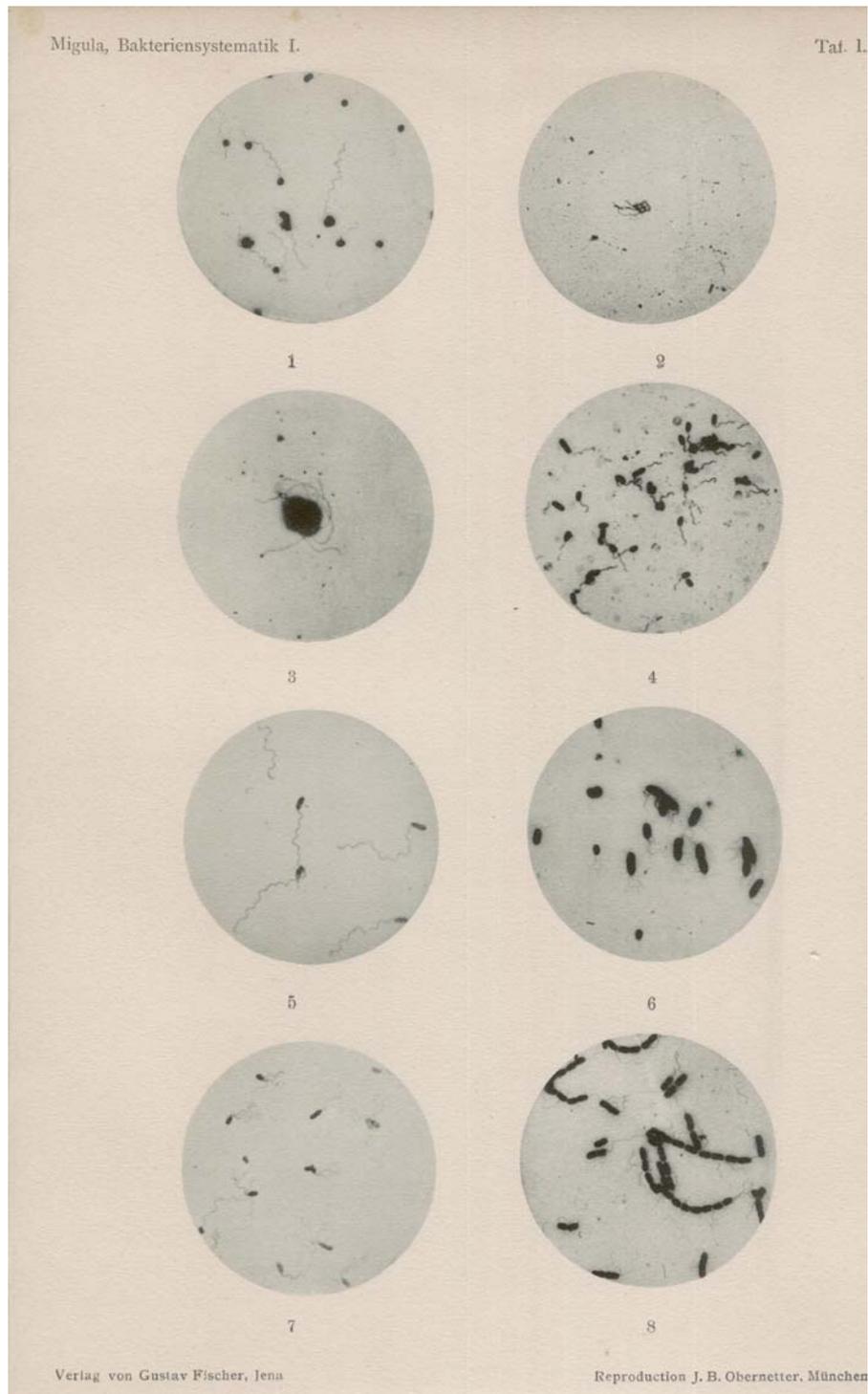


Figura 2.1. Ernst Haeckel y Sigurd Orla-Jensen.

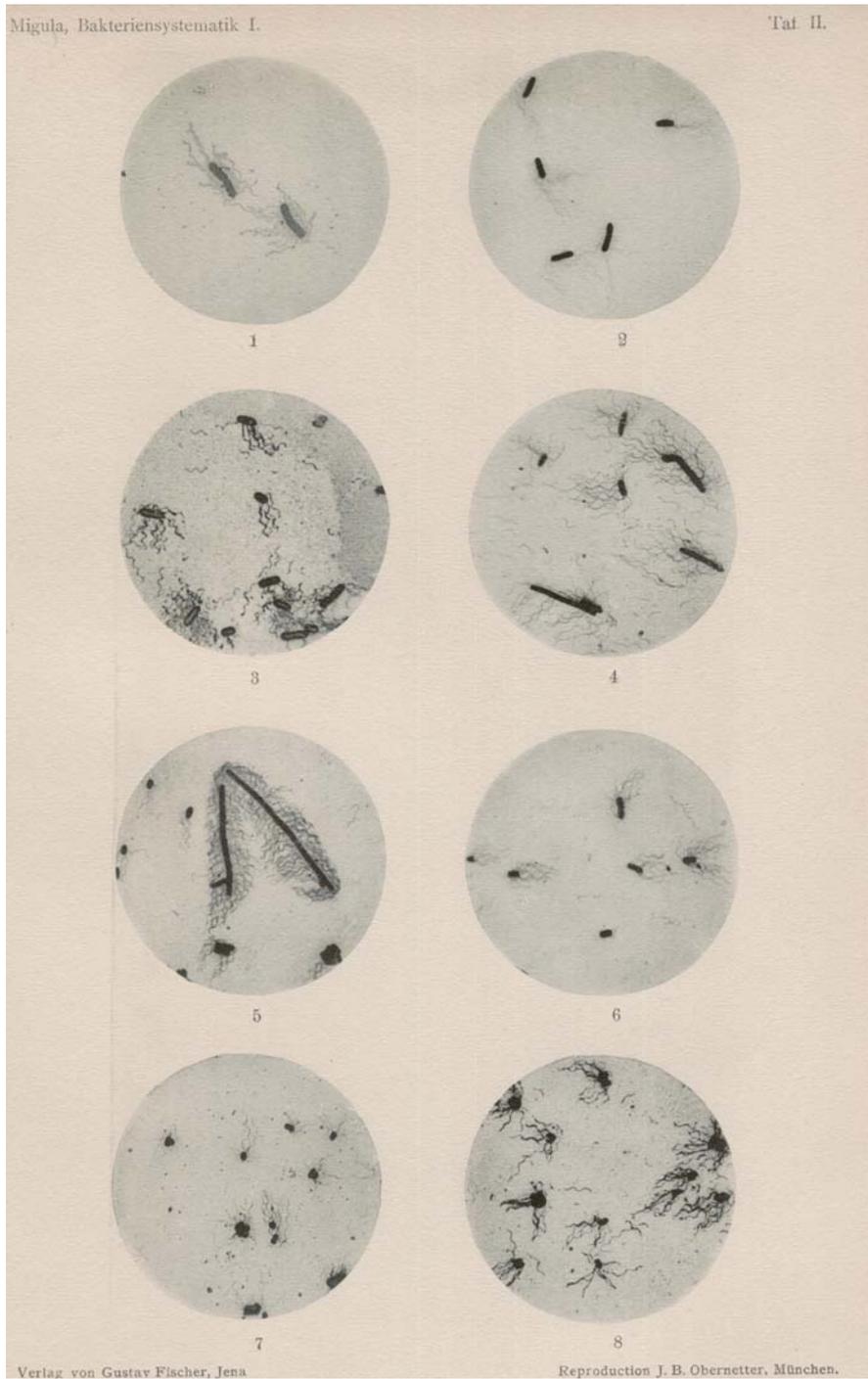
Figura 2.2: Láminas I, II, III y IV. Imágenes extraordinarias de distintas especies bacterianas obtenidas por Migula, obviamente con la denominación recogida por el autor (System der Bakterien. Migula 1897).

Lámina I)



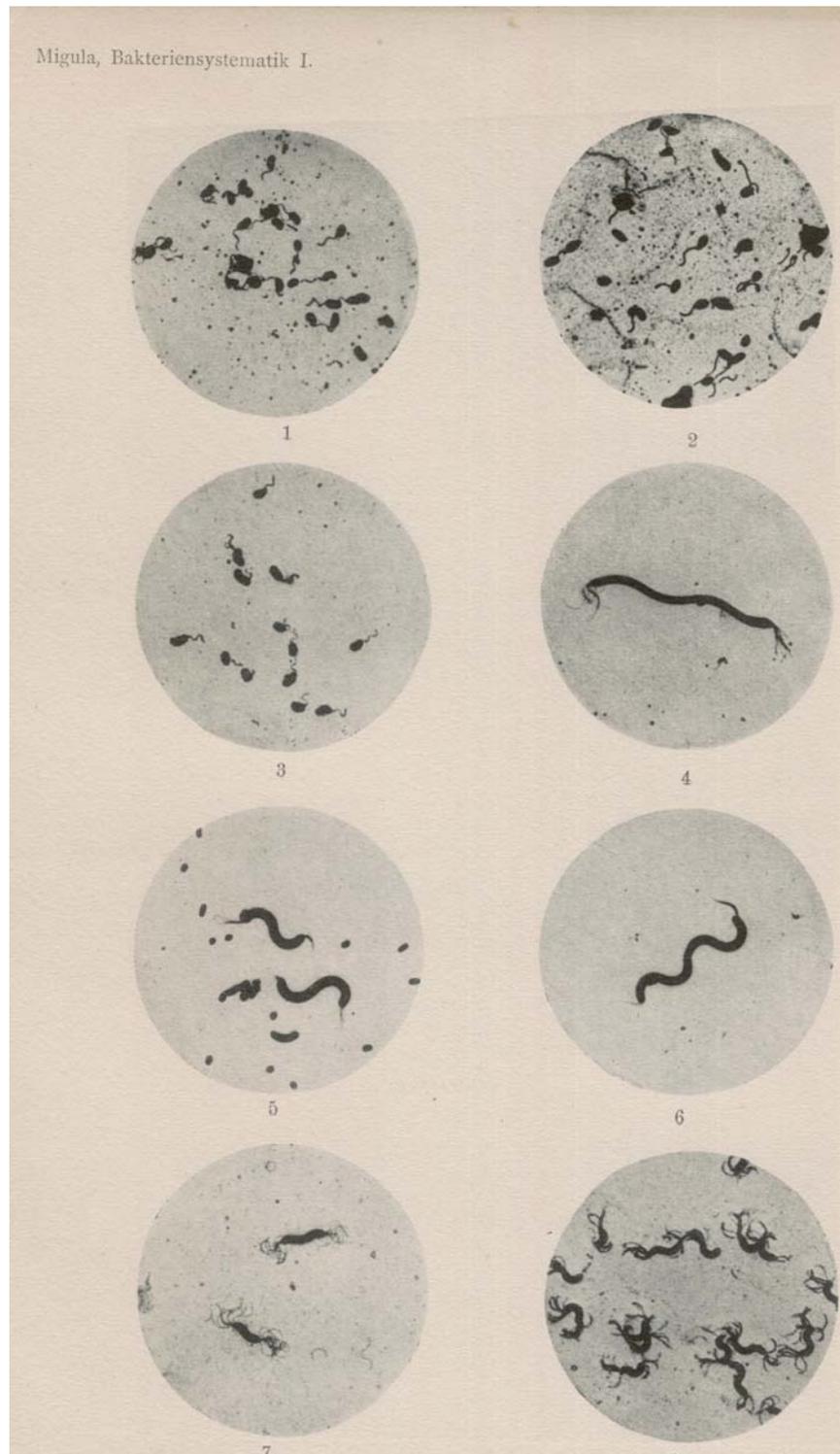
- | | |
|--|---|
| 1. <i>Planococcus citreus</i> (Tinción de Löffler) | 5. <i>Pseudomonas macroselmis</i> (Löffler) |
| 2. <i>Planosarcina mobilis</i> | 6. <i>Pseudomonas syncyanea</i> |
| 3. <i>Thiocystis violacea</i> | 7. <i>Pseudomonas gracilis</i> |
| 4. <i>Pseudomonas pyocyanea</i> (Löffler) | 8. <i>Pseudomonas aromatica</i> |

Lámina II)



- | | |
|------------------------------------|--------------------------------|
| 1. <i>Bacillus subtilis</i> x 1000 | 5. <i>Bacillus vulgaris</i> |
| 2. <i>Bacillus vulgatus</i> | 6. <i>Bacillus typhi</i> |
| 3. <i>Bacillus tetani</i> | 7. <i>Bacillus suicida</i> |
| 4. <i>Bacillus oedematis</i> | 8. <i>Bacillus typhimurium</i> |

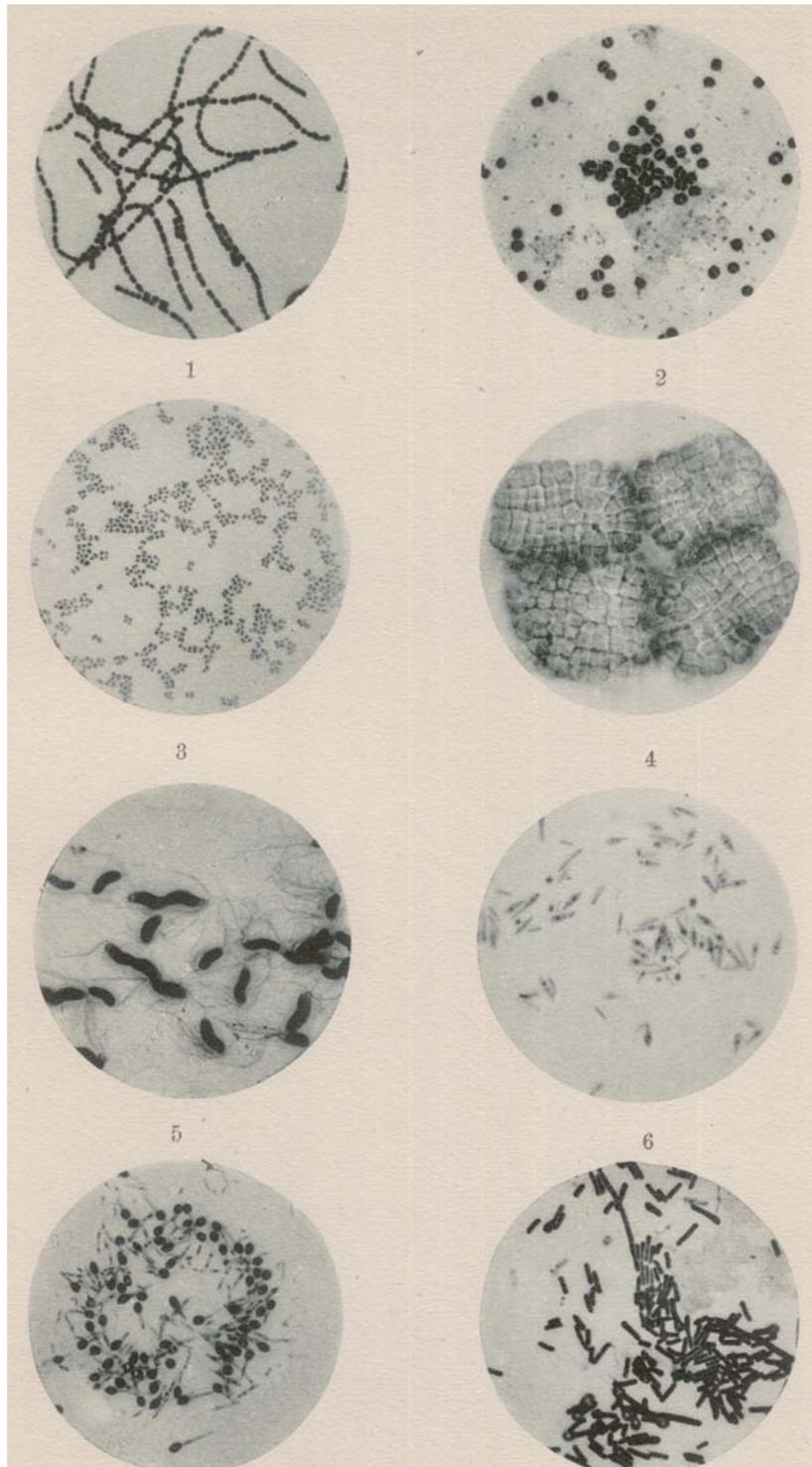
Lámina III)



1. *Microspira comma*
2. *Microspira smithii*
3. *Microspira nigricans*
4. *Spirillum serpens*

5. *Spirillum undula*
6. *Spirillum undula*
7. *Thiospirillum rufum*
8. *Spirillum rubrum*

Lámina IV)



- | | |
|------------------------------|---------------------------------|
| 1. <i>Bacillus typhi</i> | 5. <i>Bacterium anthracis</i> |
| 2. <i>Bacillus coli</i> | 6. <i>Bacterium anthracis</i> |
| 3. <i>Microspira comma</i> | 7. <i>Pseudomonas capsulata</i> |
| 4. <i>Bacterium septatum</i> | 8. <i>Bacillus oxalaticus</i> |

Mientras tanto, en 1909, aparece un nuevo sistema de clasificación de Orla-Jensen. Este nuevo sistema tiene el interés de haber introducido caracteres bioquímicos que suelen relacionarse con caracteres morfológicos, destacando sobre todos, el de la flagelación. Esta clasificación distingue dos familias importantes:

1. Familia *Cephalotrichinae* que comprende aquellas bacterias que presentan una movilidad polar monotrica o lofotrica. No suelen acumular gran cantidad de productos finales orgánicos, serían bacterias oxidativas. Dentro de esta familia aparecería la siguiente clasificación:

- 1) *Oxidobacteriaceas* o grandes oxidadoras de compuestos glucídicos, proteicos y de hidrógeno.
- 2) *Actinomycetaceas* que comprenderían aquellas bacterias con tendencia a formar micelios ramificados.
- 3) *Rhodobacteriaceas* o bacterias purpúreas.
- 4) *Trichobacteriaceas* o bacterias filamentosas y acuáticas ligadas al metabolismo del hierro.
- 5) *Luminibacteriaceas* o bacterias luminiscentes.
- 6) *Rheducibacteriaceas* o bacterias con actividades reductoras.

2. Familia *Peritrichinae* que comprende aquellas bacterias cuya movilidad se consigue mediante una flagelación peritrica. En general son bacterias fermentativas y putrefactivas. Dentro de esta familia distingue:

- 1) *Acidobacterias* que incluye bacterias aeróbicas o fermentativas productoras de azufre.
- 2) *Alcalibacterias* o bacterias aeróbicas productoras de amonio.
- 3) *Butiribacterias* o bacterias anaeróbicas productoras de ácidos.
- 4) *Putridibacterias* o bacterias anaeróbicas responsables de putrefacciones.

Entre los años 1914 y 1920 aparece otro sistema de clasificación bacteriana que tuvo una gran aceptación entre los bacteriólogos médicos. Es la clasificación de Lehmann y

Neumann. Estos autores introducen las bacterias de tipo fungáceo en un grupo a parte constituido por tres géneros de interés:

1. *Corynebacterium*, representado por bacilos delgados más gruesos en un extremo, asporógenos, inmóviles y no ácido-resistentes.
2. *Mycobacterium* que comprende los bacilos ácido-resistentes.
3. *Actinomyces* que está representado por aquellas bacterias que forman filamentos con ramificación auténtica.

Además distinguen las bacterias *Coccaceas* representadas por formas esféricas y en las que incluyen los siguientes géneros:

4. *Streptococcus* si forman cadenas.
5. *Sarcina* si forman paquetes.
6. *Micrococcus* si se presentan aisladas.

Otro grupo convencional sería el de las *Bacteriaceas* que son las formas bacilares y en el que aparecen dos géneros de referencia:

7. *Bacterium* que incluye formas bacilares sin esporas.
8. *Bacillus* que incluye los bacilos formadores de esporas.

Finalmente las formas curvadas constituirían la familia de las *Spirillaceas* donde se diferencian los siguientes géneros:

9. *Vibrio* que incluye las formas curvadas con uno o dos flagelos polares.
10. *Spirillum* que corresponde a formas espirales largas y rígidas.
11. *Spirochaeta* que corresponde a formas espirales largas y flexibles sin flagelos.

Como puede observarse, es una clasificación sencilla para el bacteriólogo clínico; es puramente morfológica y tiende hacia una aplicación práctica más que hacia una clasificación natural.

Afortunadamente, durante los años 1917 y siguientes, surge un microbiólogo capaz de aglutinar a la mayoría de los bacteriólogos de todos los países a efectos de encontrar una clasificación bacteriana armónica y rigurosa. Nos referimos a Buchanan y a la aparición de la 1ª edición del Manual Bergey. Debe reconocerse que la labor de Buchanan es extraordinaria. A partir de un reconocimiento previo de todos los sistemas de clasificación de las bacterias comienza su labor ubicando de una forma muy clara lo que él y sus colaboradores denominan Eubacterias o bacterias verdaderas. En estos momentos Buchanan distingue los siguientes Órdenes:

1. *Eubacteriales* o bacterias verdaderas.
2. *Actinomycetales* o bacterias filamentosas.
3. *Myxobacterales* o bacterias flexuosas que se deslizan formando cuerpos fructíferos llenos de elementos de resistencia (mixosporas).
4. *Chlamydo bacteriales* o bacterias provistas de vaina.
5. *Spirochaetales* o bacterias espiraladas.
6. *Thiobacteriales*. Incluye bacterias fotosintéticas y del azufre.

A medida que avanza el conocimiento de los diferentes representantes de estos órdenes se considera oportuno separar o escindir el grupo de las *Thiobacteriales* en dos nuevos órdenes:

7. *Beggiatoales* o bacterias ligadas a grupos fisiológicos y morfológicos especializados.
8. *Pseudomonadales*. Comprende bacterias bacilares de morfología discreta, dotadas de flagelación polar y metabolismo oxidativo.

Con estas características había que reconocer una relativa semejanza morfológica entre *Eubacteriales* y *Pseudomonadales*. Las primeras agruparían preferentemente a bacterias provistas de flagelación peritrica y metabolismo fermentativo mientras que las *Pseudomonadales* comprenderían elementos de metabolismo oxidativo y flagelación polar. Esta diferenciación no es muy rigurosa y los mismos autores del 1^{er} Bergey's Manual of Determinative Bacteriology reconocen errores como el caso de *Chromobacterium* en el que la posición del flagelo polar o peritrica depende de las condiciones culturales. Este tratado se basa en la ordenación de las bacterias

considerando una serie de parámetros que para aquellos momentos eran fundamentales y rigurosos. Estos parámetros eran el modelo fisiológico, las reacciones tintoriales, el comportamiento frente al oxígeno, la morfología y la presencia o ausencia de elementos de resistencia. Basándose en este proyecto el orden de las *Eubacteriales* se distribuye en distintas familias de acuerdo a un procedimiento muy didáctico y riguroso, estableciéndose las siguientes familias:

- | | |
|-------------------------------|---------------------------------|
| 1. <i>Azotobacteriaceae</i> | 7. <i>Micrococcaceae</i> |
| 2. <i>Rhizobiaceae</i> | 8. <i>Neisseriaceae</i> |
| 3. <i>Achromobacteriaceae</i> | 9. <i>Brevibacteriaceae</i> |
| 4. <i>Enterobacteriaceae</i> | 10. <i>Lactobacillaceae</i> |
| 5. <i>Brucelaceae</i> | 11. <i>Bacillaceae</i> |
| 6. <i>Bacteroidaceae</i> | 12. <i>Propionibacteriaceae</i> |
| 13. <i>Corynebacteriaceae</i> | |

Esta agrupación familiar se puede redistribuir en función del Gram de modo que se puede hablar de las familias constituidas por:

▪ *Eubacterias* Gram negativas:

1. *Rhizobiaceae*s o bacterias fijadoras simbióticas de nitrógeno.
2. *Neisseriaceae*s o bacterias cocáceas responsables de enfermedades.
3. *Bacteroidaceae*s o bacterias Gram negativas anaeróbicas estrictas.
4. *Enterobacteriaceae*s o bacterias Gram negativas especializadas en la colonización del tubo digestivo.
5. *Brucelaceae*s o bacterias de difícil crecimiento en el laboratorio que pueden precisar para su cultivo fragmentos de órganos.
6. *Azotobacteriaceae*s o bacterias fijadoras no simbióticas de N₂, típicas de suelos y pleomórficas.

▪ *Eubacterias* Gram positivas:

1. *Actinomycetaceae*s o bacterias que recuerdan por su morfología filamentosa a los hongos. Son bacterias típicas de suelos.

2. *Micrococcaceae* o cocos Gram positivos.
3. *Bacillaceae* o bacterias productoras de endosporas.
4. Otras familias caracterizadas sobre todo por los productos finales acumulados, destacando *Propionibacteriaceae* y *Lactobacillaceae*.
5. Finalmente hay dos familias de morfología variable que acumulan diversos productos finales *Brevibacteriaceae* y *Corynebacteriaceae*.



Figura 2.3. Robert E. Buchanan y David H. Bergey.

Poco a poco surge el germen del concepto moderno de los grandes grupos bacterianos, en algunos casos con sistemas taxonómicos poco afortunados, nos referimos a la taxonomía impuesta por la escuela francesa de Prévot y la rusa de Krassilnikov.

Prévot, en su libro de Sistemática Bacteriana (1961), firmado como jefe de Servicio del Instituto Pasteur y miembro del Comité Internacional de Nomenclatura Bacteriana,

Sin embargo, bien es cierto que Prévot distribuye a los principales grupos bacterianos de un modo muy personal, con ciertas connotaciones que recuerdan terminologías eucariotas. Distingue a las Eubacterias o bacterias verdaderas, Mycobacterias o bacterias afines a los hongos, Algobacterias o bacterias afines a las algas y Protozobacterias o bacterias afines a los protozoos. En la figura 2.4. se representa la distribución de los principales grupos bacterianos según este excelente microbiólogo francés especializado en bacterias anaerobias.

El representante más conspicuo de la escuela taxonómica rusa es sin duda Krassilnikov. En el año 1959 publica el tratado “Diagnostik der Bakterien und Actinomyceten”. Para este autor, la clasificación de las bacterias se inició a partir de la necesidad de reconocer a los microorganismos capaces de producir enfermedades humanas, animales y de plantas.

Krassilnikov, experto en bacterias del suelo y aguas, es muy crítico con otros grupos de taxónomos. No duda en señalar las carencias de la primera edición del Manual Bergey así como los trabajos de Stanier y Van Niel. Comenta como en el Manual Bergey formas muy distintas se consideran pertenecientes a un mismo grupo. Por ejemplo, la familia *Rhizobiaceae* incluye bacterias tuberosas incoloras del género *Rhizobium* junto a organismos coloreados del género *Chromobacterium* y representantes fitopatógenos como *Phytomonas*. Entre los géneros citados coexisten bacterias con flagelación polar. Tampoco aprueba la organización de algunas familias como la *Bacteriaceae* que contiene bacterias de distintas naturaleza, Gram positivas y Gram negativas, incoloras y coloreadas, móviles e inmóviles, etc.

En su tratado distingue entre las Protophyta, las siguientes Clases:

1. *Actinomyceta*
2. *Eubacteria*
3. *Myxobacteria*
4. *Spirochaeta*

La Clase *Actinomyceta* se organizan en los siguientes Órdenes:

1. *Actinomicetales*
2. *Mycobacteriales*
3. *Cocales*

La Clase *Eubacteria* la distribuye en los Órdenes:

1. *Eubacteriales*
2. *Chamydobacteriales*
3. *Ferribacteriales*
4. *Thiobacteriales*

En la Clase *Myxobacteria* sólo reconoce el Orden *Myxobacteriales* y finalmente en la Clase *Spirochaeta* se distinguen los Órdenes:

1. *Spirochaetales*
2. *Chlamydozoales*

Pero retornando al Manual Bergey, la edición aparecida en 1984 no es la novena como cabría esperar. El Consejo Directivo de la obra decidió introducir modificaciones tan amplias y cambios tan importantes en su contenido, que en la nueva versión el Manual desbordaba el título inicial de Determinative Bacteriology, cambiándose por el de Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, naturalmente 1ª edición. Los cambios introducidos son tanto cuantitativos como cualitativos. Los grandes avances realizados en los últimos años en el conocimiento de la estructura del ADN bacteriano junto al desarrollo de nuevos métodos y técnicas para el estudio de la composición de la secuencia de pares de bases, consiguieron establecer unos principios precisos y seguros para la clasificación bacteriana. Además, las investigaciones basadas en el estudio de las secuencias de ARN 16S y 5S aportaron datos muy valiosos para llevar a cabo una clasificación bacteriana filogenética. Como consecuencia de la introducción de estos nuevos conceptos las descripciones de los diferentes grupos se ampliaron considerablemente, de manera que de un sólo volumen de 1246 páginas de la octava edición se pasó a cuatro volúmenes con un total de 2648 páginas.

Aceptando que una clasificación bacteriana basada en las características genéticas de las bacterias ofrece mayor garantía de precisión y estabilidad, se hizo conveniente precisar el concepto de bacteria y especie bacteriana. A estas alturas sólo insistiremos en que el contenido de estos cuatro volúmenes hace referencia única y exclusivamente a la estructura del modelo celular procariota. En este sentido, debe recordarse que Murray, uno de los padres del Manual Bergey, en 1968, propuso incluir a todos los organismos con estructura procariota, las bacterias y las llamadas algas Cianofíceas, en una categoría taxonómica especial al más alto nivel, lo que se tradujo en el reino *Procaryota* o reino de los procariotas. Como puede observarse en la 8ª edición del Manual Bergey's of Determinative Bacteriology ya se incluye este concepto que naturalmente se mantiene en la 1ª edición del nuevo Manual of Systematic Bacteriology.

Los avances logrados en los últimos años en cuanto a los conocimientos sobre la filogenia bacteriana condujeron a la creación de una división denominada Mendosicutes y dentro de ella a la clase *Archaeobacteria*. Ello puso de manifiesto que el esquema procariota/eucariota no era tan concluyente puesto que dentro de los procariotas era necesario distinguir entre *Archaeobacteria* y *Eubacteria*.

Como hemos comentado, en bacteriología la unidad taxonómica básica es la especie, concepto más complejo en su definición para el caso de las bacterias que para el resto de los seres vivos. Momentáneamente la definiremos de acuerdo al criterio de Stanier, Adelberg e Ingraham, es decir, como “un conjunto de poblaciones clonales, que con grandes semejanzas fenotípicas entre sí, se diferencian de manera manifiesta de otros conjuntos de seres afines”. Staley y Krieg precisan la definición utilizando un punto de referencia, la denominada cepa tipo, y consideran que “una especie está constituida por la cepa tipo y por todas aquellas cepas que se consideren tan parecidas a la misma como para poder justificar su inclusión en la especie”.

Como es lógico, estas definiciones precisan mayores comentarios puesto que es evidente el factor de subjetividad. En la actualidad el empleo del mayor número de caracteres ayuda a la definición de especie bacteriana y se utiliza ampliamente el grado de homología en la secuencia de pares de bases del ADN cromosómico; sin

embargo, la aplicación tajante de este criterio planteaba serios problemas al bacteriólogo médico.

En este nuevo manual se mantienen las categorías taxonómicas clásicas entre especie y reino y, aunque se aconseja limitar las categorías de mayor a menor, a Reino, División (Tipo o Phylum), Clase, Orden, Familia, Género y Especie, en algunas ocasiones se emplean también otras categorías taxonómicas como la de Tribu y Subespecie. Como categorías inferiores a la de especie, pero sin rango oficial en la nomenclatura bacteriana, se introducen las variedades (serovariedades, patovariedades, fagovariedades, etc.), importantes en microbiología médica.

Los criterios taxonómicos que se comentan han servido para aplicarse en esta nueva edición del Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, aunque muchos de ellos ya se habían aplicado en la 8ª edición del Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.

Resumiendo, en el nuevo Manual Bergey el reino *Procaryota* comprende 4 Divisiones. En el establecimiento y denominación de las mismas se ha tenido en cuenta las características de las envueltas. Las cuatro divisiones son las siguientes:

- I Div. Gracilicutes
- II Div. Firmicutes
- III Div. Tenericutes
- IV Div. Mendosicutes

La división Gracilicutes incluye los organismos procariotas que poseen una pared celular compleja propia de las bacterias Gram negativas, con una membrana externa y otra interna, una fina capa intermedia con ácido murámico y otros componentes variables por fuera o entre estas estructuras. Casi siempre aparecen como bacterias Gram negativas.

En la división Firmicutes sus componentes poseen una pared bacteriana con las características de las bacterias Gram positivas. No comprenden especies fotosintéticas.

En la división Tenericutes las bacterias carecen de pared celular y no son capaces de sintetizar los precursores del peptidoglicano. Son bacterias muy pleomórficas con

grandes diferencias de tamaño. Su genoma es de un tamaño menor al resto de Procariotas.

Finalmente, la división Mendosicutes, comprende grupos de bacterias que se consideran filogenéticamente anteriores a las estudiadas hasta ahora, conclusión deducida del estudio de las características de los oligonucleótidos de su DNA ribosómico. Como hemos comentado esta división comprende a las *Archeobacterias*, cuyos representantes más conspicuos son las bacterias metanogénicas, las halófilas estrictas y las termoacidófilas.

La división Gracilicutes comprende, entre otras, la mayoría de las bacterias Gram negativas de interés en patología humana y animal. Comprende tres clases: *Escotobacteria*, *Anoxyphotobacteria* y *Oxyphotobacteria*. Las bacterias de mayor interés en patología se encuentran incluidas en la clase *Scotobacteria*.

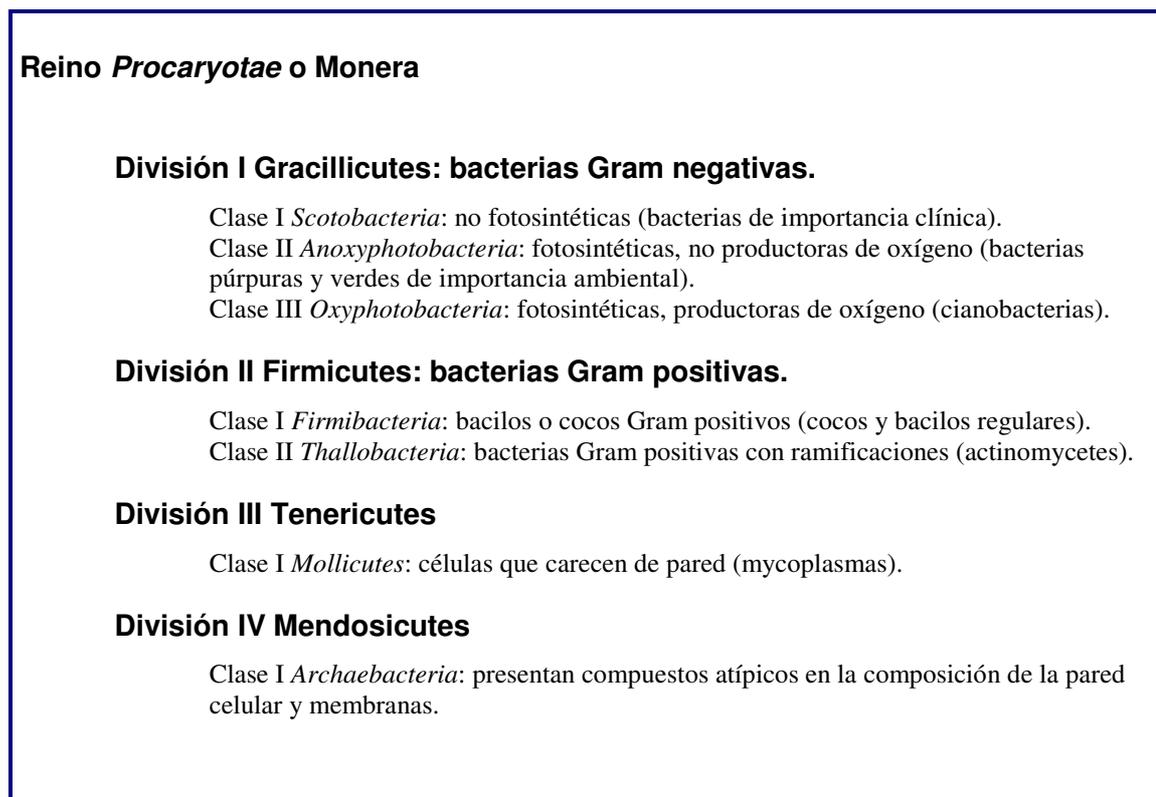


Figura 2.5. Denominación y definición de las cuatro Divisiones presentadas en el Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ,1ª Edición, (Murray, 1984).

Este Manual sigue una clasificación muy abierta, sólo en tres ocasiones se llega a la categoría taxonómica de Orden: *Spirochaetales*, *Rickettiales* y *Chlamydiales*. Además se reconocen 13 familias, 3 de ellas alcanzan por vez primera esta categoría; *Leptospiraceae*, desmembrada de las *Spirochetaceae*; *Legionellaceae* de obligada creación como consecuencia del descubrimiento de *Legionella pneumophila* y la tercera nueva familia *Pasteurelanceae* en la que se han integrado los tres géneros: *Pasteurella*, *Haemophilus* y *Actinobacillus*.

Hay bastantes géneros nuevos en esta edición, es el caso de *Providencia*, *Morganella*, *Kluyvera*, *Tatumella* y *Cedecea*, todos ellos de la familia de las *Enterobacteriaceae*, así como los géneros de *Legionella*, *Kingella*, *Gardenella* y *Ekyneilla*. El género *Branhamella* que figura por vez primera en la 8ª edición desaparece y pasa como un subgénero del género *Moraxella*. En esta primera edición del Bergey se confirman las grandes semejanzas filogenéticas entre *E.coli* y el género *Shigella*, hasta el punto que para Brenner si razonamos sobre las semejanzas de su ADN: “las cuatro especies del género *Shigella* y *E.coli* constituyen una sola especie de tal forma que las cuatro especies de *Shigella* podrían considerarse cuatro patovarietades de *E. coli*”.

Mayores problemas se plantean en el establecimiento de especies dentro del género *Salmonella*. Le Minor, que desarrolla el capítulo destinado a este género, no llega a ninguna conclusión.

Así mismo, en el género *Pseudomonas* las dificultades encontradas son considerables, figuran 92 especies, si bien, entre género y especie se establecen grupos basados en las características del ADN ribosómico 16S. Ello confirma la extraordinaria heterogeneidad del género.

Respecto a la división Tenericutes, es conveniente señalar que comprende una clase *Mollicutes*, un orden *Mycoplasmatales* y una familia *Mycoplasmataceae*.

Una diferencia destacable consiste en que al género *Mycoplasma* se ha añadido el género *Ureaplasma*.

Esta nueva edición del Manual Bergey considera así mismo la idea resucitada en 1956 por Sneath de un nuevo sistema de clasificación, la denominada taxonomía numérica o Adansoniana; sugerida por el botánico Adanson a finales del siglo XVIII y cuyos principios básicos son los siguientes:

1. Una taxonomía natural es aquella en la que las categorías taxonómicas se establecen valorando el mayor número posible de datos informativos basados en todos los caracteres posibles.
2. Todo carácter tiene igual importancia desde el punto de vista taxonómico.

De acuerdo a estas ideas se determina un gran conjunto de caracteres independientes, 100 o más, y se establece por comparación de los datos obtenidos de todas las cepas estudiadas un coeficiente de semejanza que en el caso de cepas idénticas será de 100. Gracias a los ordenadores esta técnica se ha simplificado y con ella se han confirmado muchas de las especies consideradas como tales por métodos clásicos, aunque con frecuencia se han descubierto agrupaciones especiales de cepas dentro de la misma especie e indicativas de la no homogeneidad de la misma.

En el año 2001 aparece el primer volumen de la 2ª edición del Manual Bergey's of Systematic Bacteriology. Esta nueva edición constará de 5 volúmenes. La opinión entre los miembros de la comunidad científica es que está resultando muy compleja y lenta. En el único volumen publicado se presentan las *Archeobacterias* y bacterias fototrofas. De cualquier forma, debe reconocerse que desde la 1ª edición publicada en 1984 hasta hoy el campo de la taxonomía ha experimentado un crecimiento explosivo con cerca de 2200 nuevas especies y 390 nuevos géneros. Este desarrollo dentro del campo de la taxonomía puede atribuirse sobre todo a los rápidos avances en la secuenciación molecular de las regiones altamente conservadas del genoma procariota. En este nuevo Manual se detectan, así mismo, interesantes informaciones ecológicas que suelen encontrarse al comienzo de cada capítulo.

El pasado agosto del año 2004 estaba prevista la publicación del 2º volumen del nuevo Manual Bergey. Su contenido se basa en el estudio y presentación de las Proteobacterias, desafortunadamente no conocemos el perfil que sobre estas bacterias presentarán sus editores.

La sección introductoria de este interesante tratado incluye una variedad de información que cubre algunos tópicos como la historia del Manual, clasificación e identificación de Procariotas, así como las normas de nomenclatura y ecología microbiana. A nivel de la página 142 se encuentra una tabla ordenada alfabéticamente por géneros y cabe señalar que muchas descripciones están acompañadas por imágenes a nivel de microscopio electrónico. Cada género incluye una referencia de la descripción original.

Obviamente el estudio y la aplicación de estas normativas que hemos comentado chocan con la microbiología práctica que debe conocer y utilizar no sólo el estudiante ubicado en Facultades Sanitarias, sino también en el estudio cotidiano de bacterias de origen clínico. Por ello, es muy útil reconocer la existencia de una clasificación informal utilizada en Microbiología Clínica que permite la ubicación de muchas bacterias de origen hospitalario. En la figura 2.6. se expresa una clasificación adecuada para esta finalidad.

Figura 2.6. Clasificación informal usada en microbiología clínica presentada en el *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1ª Edición, (Murray, 1984).

Células Gram positivas		Células Gram negativas	
Cocos Gram positivos		Cocos Gram negativos	
<i>Staphylococcus</i>		<i>Neisseria</i>	
<i>Streptococcus</i>		<i>Branhamella</i>	
<i>Enterococcus</i>		<i>Moraxella</i>	
<i>Peptococcus</i>		<i>Acinetobacter</i>	
<i>Peptostreptococcus</i>		<i>Veillonella</i>	
Bacilos Gram positivos		Bacilos Gram negativos	
<i>Bacillus</i>		<i>Brucella</i>	
<i>Clostridium</i>		<i>Bordetella</i>	
<i>Lactobacillus</i>		<i>Francisella</i>	
<i>Listeria</i>		<i>Pseudomonas</i>	
<i>Erysipelothrix</i>		<i>Enterobacteriaceae (E.coli)</i>	
<i>Propionibacterium</i>		<i>Legionella</i>	
<i>Corynebacterium</i>		<i>Vibrio</i>	
<i>Mycobacterium</i> (Ácido-resistente)		<i>Campylobacter</i>	
<i>Nocardia</i> (Ácido-resistente)		<i>Haemophilus</i>	
<i>Actinomyces</i>		<i>Pasteurella</i>	
<i>Streptomyces</i>		<i>Bacteroides</i>	
		<i>Fusobacterium</i>	
Bacterias inusuales			
Spirochetas (Presentan filamentos axiales)		Mycoplasmas (Células sin pared celular)	
<i>Treponema</i>		<i>Mycoplasma</i>	
<i>Leptospira</i>		<i>Ureaplasma</i>	
<i>Borrelia</i>		Rickettsias y Chlamydias (Parásitos intracelulares obligados)	
		<i>Ehrlichia</i>	
		<i>Rickettsia</i>	
		<i>Coxiella</i>	
		<i>Chlamydia</i>	
		<i>Bartonella</i>	

2.2. GRANDES HITOS QUE HAN MARCADO EL AVANCE DE LA TAXONOMÍA BACTERIANA: CRONÓMETROS MOLECULARES

Uno de los grandes descubrimientos del siglo XX es el denominado reloj evolutivo descrito por vez primera en el año 1983 gracias a los trabajos de Kimura. Organismos distintos, pero claramente relacionados, con secuencias moleculares diferentes que correspondan a las mismas funciones, permiten medir comportamientos fenotípicos de los seres vivos comparados.

Con el perfeccionamiento de las técnicas de secuenciación de macromoléculas se ha conseguido el desarrollo de nuevas metodologías apropiadas para la determinación de las relaciones evolutivas entre los seres vivos. La base del método consistía en la comparación de secuencias de macromoléculas provistas de información o cronómetros moleculares. Un buen cronómetro debe cumplir los siguientes requisitos:

- a) Distribución universal dentro del grupo que es objeto de estudio.
- b) Homología funcional.
- c) La tasa de cambio debe ser inversamente proporcional a la distancia filogenética que se pretende medir.

Se pretendía crear una estrategia revolucionaria que paliase los graves defectos de información que afectaban a la taxonomía bacteriana. Esta estrategia se basaba en la posibilidad de utilizar diferencias entre genes o proteínas para conocer parentescos y dependencias entre seres vivos, en lugar de ceñirse a caracteres anatómicos o fisiológicos.

La filogenia molecular se basa en conceptos fundamentales. Los genes constituidos por secuencias específicas de nucleótidos son los responsables de la síntesis de proteínas compuestas por cadenas de aminoácidos. Los genes mutan (cambian secuencias) lo que redundará en la alteración de la proteína codificada. En estas circunstancias, puede suceder en algunos casos que las mutaciones no dejen sentir su efecto en la función de la proteína o incluso la mejoren. Estas consecuencias se acumularán a lo largo del tiempo. Los primeros estudios se basaban en las secuenciaciones de los aminoácidos de las proteínas. Era la década de los 60-70. Pero al poco tiempo, Woese, de la Universidad de Illinois, fijó la atención en un nuevo parámetro apto para fijar distancias evolutivas: el ARN ribosómico microsubunitario (small subunit ribosomal RNA, SSUrRNA). Esta molécula, genéticamente determinada, constituye un componente clave de los ribosomas.

El RNA ribosómico es una molécula relativamente grande, que contiene una información considerable y su tamaño es óptimo respecto a otras moléculas. Puede aislarse en cantidades relativamente grandes, puede secuenciarse directamente y no

está sujeto a la transferencia lateral de genes. Para construir árboles filogenéticos se puede partir del estudio de secuencias alineadas y se puede estudiar el número de posiciones que difieren entre sí las secuencias de pares de bases; las diferencias entre estos pares permiten confeccionar una distancia. Así mismo, se pueden establecer diferencias entre la cualidad de las secuencias, por ejemplo en qué lugares hay distintas composiciones y cual es la naturaleza de estas diferencias.

Desde que las relaciones bacterianas se han basado exclusivamente en una sola molécula, RNA 16S o RNA 5S, se asume que las filogenias así inferidas representan al organismo tal como es. Por otra parte, la relación de las bacterias respecto a los eucariotas no ha sido un objeto fructífero de discusión y en general parecía que había un acuerdo que afirmaba que las bacterias no estaban relacionadas entre sí. Podría entenderse al establecer una distinción importante entre las Cianobacterias y las bacterias y en el rechazo en admitir a Mixobacterias y Espiroquetas en esquemas taxonómicos usuales. En definitiva, existía una diversidad excesiva entre estos grupos como para que los bacteriólogos premoleculares se sintiesen conformes con el concepto de que las bacterias fuesen un solo grupo monofilético.

Este dogma procariota-eucariota se complicó con el descubrimiento de las archeobacterias. En este sentido, las eubacterias aparecen en el árbol filogenético separadas de las archeobacterias y por supuesto de los organismos eucarióticos en una línea evolutiva anterior que supone un antecesor común para archeobacterias y sorprendentemente para los organismos eucarióticos.

Para subrayar la importancia de la diversidad tripartita de los seres vivos se crea un nuevo taxón, el dominio. En 1990, Woese, Kandler y Wheelis consideran que esta categoría taxonómica refleja diferencias evolutivas profundas, de esta forma los organismos vivos del planeta se agruparían en tres dominios:

1. dominio *Bacteria*, que comprende las *Eubacterias*.
2. dominio *Eucarya*, que agrupa a los organismos Eucarióticos.
3. dominio *Archaea*, que engloba a las *Archeobacterias*.

Dentro del dominio *Archaea* los autores distinguen 2 Reinos:

1. *Euryarchaeota*, que comprende a las Archeobacterias metanógenas, las Halobacterias y organismos relacionados.
2. *Crenarchaeota*, que agrupa una serie de microorganismos de hábitats termófilos, con una fisiología similar dependiente del azufre.

Así mismo, se comprobó que en los procesos de transcripción y traducción existen diferencias considerables. La ARN polimerasa de las arqueas, el enzima que lleva a cabo la transcripción, guarda un parecido mayor con los eucariotas que respecto a las eubacterias. Las proteínas de las arqueas también se asemejan más a las de las células eucariotas que a las bacterianas.

Aceptada la tesis de la división de la vida en tres dominios había que dilucidar el origen de la célula eucariota. Ciertamente los estudios sobre el parentesco entre la maquinaria de transcripción y traducción de las eucariotas y las arqueas revelaron que las primeras procedían de estas.

Respecto a los dominios restantes, los autores no se pronuncian, suponiendo que el dominio *Eucarya* estaría constituido por los reinos Animal, Hongos y Plantas. Finalmente, en el dominio *Bacteria*, la mayoría de los *Phyla* reconocidos se elevarían al rango de reino.

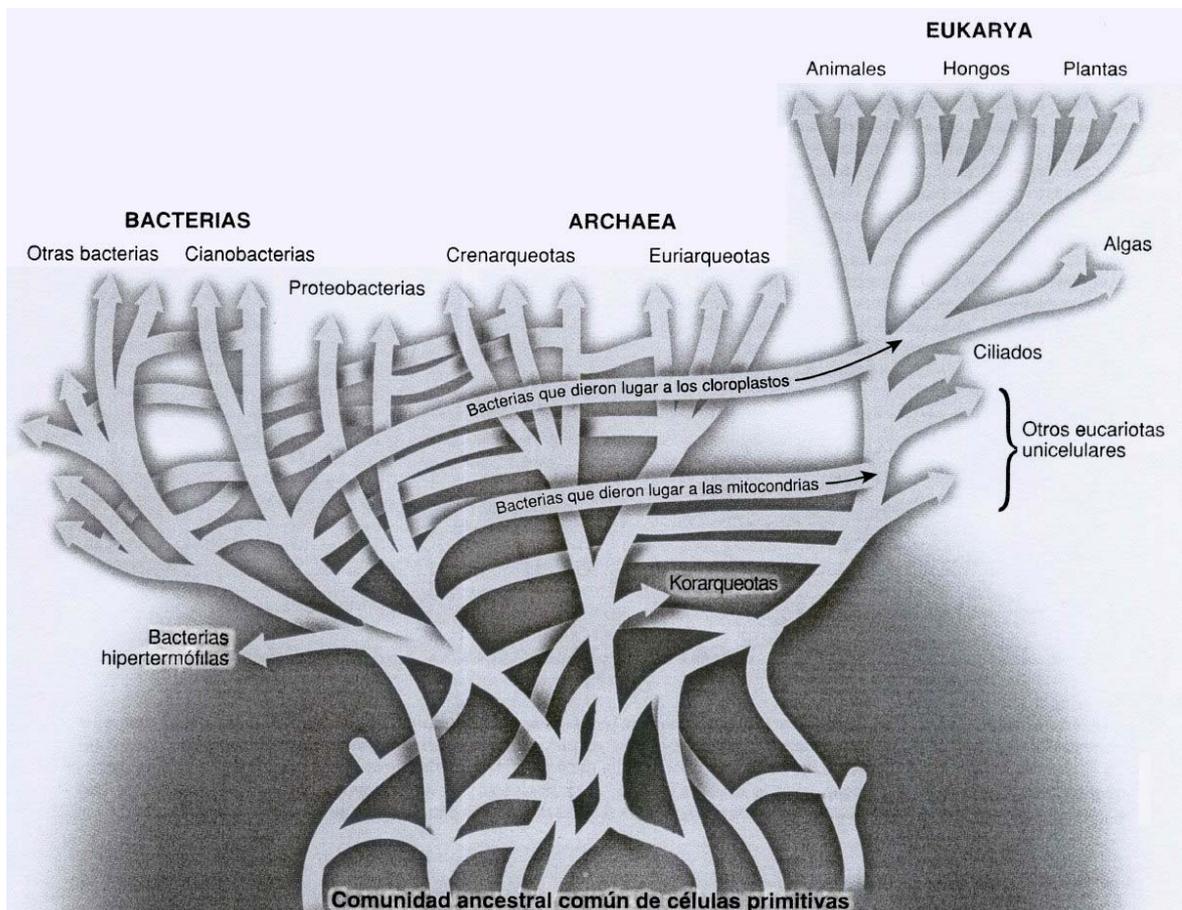


Figura 2.7. Versión revisada del árbol de la vida. Mantiene una estructura ramificada en la parte superior del dominio *Eukarya* y acepta que los eucariotas adquirieron de las bacterias las mitocondrias y los cloroplastos. Incluye también una extensa trama de enlaces transversales entre ramas, enlaces que se han distribuido al azar para simbolizar el alto grado de transferencia lateral de un gen o un grupo, un fenómeno persistente entre seres unicelulares. El “árbol” reformado se caracteriza también por carecer de una célula única en su raíz; los tres dominios de la vida (*Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*) se originaron probablemente a partir de una población de células primitivas cuyos genes fueron divergiendo.

Tal como se representa en la figura 2.7., otro enigma relativamente resuelto es el que hace referencia a los organismos eucarióticos. También en este caso han resultado muy útiles los estudios de filogenia molecular. Parece ser que la evolución de la línea que condicionaba la aparición del núcleo se produjo de una forma discontinua. Así los Microsporidia serían los organismos del dominio *Eucarya* más primitivos. Como es sabido, se trata de parásitos obligados carentes de mitocondrias que poseen un RNA_m

de dimensiones procariotas. Serían los actuales representantes del antecesor de los modernos eucariotas que con el tiempo pudieron establecer relaciones simbióticas con los procariotas precursores de mitocondrias y cloroplastos.

En la misma figura se pueden observar las líneas que llevan a Flagelados, Euglenoydes y Tripanosomas, así como aquellas que derivan hacia Hongos mucosos, Ciliados, Dinoflagelados y finalmente las que conducen a Hongos, Plantas y Animales.

La figura 2.7. presenta una visión de conjunto de los principales grupos taxonómicos que figuran en el tratado *The Procaryotes*. Está basada fundamentalmente en el análisis del rRNA 16S. Además se apoya en otros parámetros filogenéticamente distintos que comprenden agrupaciones de datos basados en la determinación de las secuencias del RNA ribosómico, secuencias de la transcriptasa reversa (RT), hibridación DNA / rRNA, análisis de la secuencia de genes o productos génicos, factor de elongación (Ef), Ferredoxina (Ferr) y Citocromo C (CytC), entre otros.

Generalmente se acepta que si dos microorganismos poseen un DNA altamente homólogo, significa que se encuentran genéticamente muy relacionados. Es evidente que la comparación de parámetros utilizados en los distintos métodos ha demostrado una excelente concordancia entre todos ellos.

Cuando la homología DNA/DNA alcanza un valor del 70% o superior, en condiciones experimentales rigurosas, significa que los organismos que se comparan pertenecen a la misma especie (Wayne, 1987). Numerosos estudios han mostrado una importante correlación entre las similitudes fenotípicas y genéticas. En cambio, valores comprendidos entre el 30% y el 70% de similitud reflejan un grado moderado de semejanza. Si el nivel de similitud hallado se encuentra por debajo del 30%, debería evitarse cualquier conclusión sobre la taxonomía de los organismos analizados.

Hay otros datos que resultan interesantes respecto al estudio de la similitud entre dos organismos y que se basan en la T_m (temperatura de fusión). Se ha comprobado que aquellas especies que muestran una homología superior al 60% no suelen diferir en más de un 2% en el valor de la T_m . Como afirma Stakerbrandt, este parámetro

considerado aisladamente no se cumple en todos los casos, por ejemplo, especies distintas de *Oceanospirillum* apenas presentan un 2 % de diferencia.

A nivel de Proteobacterias, la situación es un tanto complicada. Más de 200 géneros de organismos Gram negativos se han distribuido en cuatro o cinco subclases (alfa, beta, gamma y delta). Probablemente se reconocerá una quinta subclase que comprende *Campylobacter* y taxones relacionados. La mayoría de los taxones se han investigado a partir del rRNA 16S y los cistrones rDNA. Hay una concordancia absoluta. Por otra parte, los datos correspondientes al estudio del rRNA 5S han complementado eficazmente los resultados obtenidos con otros procedimientos, sobre todo para los grupos de las bacterias productoras de prosteca de la subclase alfa y con la elevada diversidad de los tiobacilos y de los organismos oxidadores del metanol.

La organización de los distintos grupos bacterianos en función del estudio de estos parámetros nuevos ha causado, en ocasiones, sorpresa bajo la óptica de la taxonomía microbiana tradicional, porque organismos que se consideraban muy separados se encuentran ahora muy próximos. Las bacterias fototróficas son vecinas de las oxidadoras de nitritos.

Curiosamente, para llevar a cabo una clasificación correcta, pierden significado propiedades tan importantes como la realización de la fotosíntesis, la oxidación del monóxido de carbono, oxidación del metano y el metanol, oxidación del NH_4 , así como morfologías celulares aparentemente singulares, como la helicoidal, gemación, presencia de prosteca, etc.

Ocurre en ocasiones que taxones que han sido fenotípicamente descritos de una forma adecuada pueden variar de una forma significativa en su profundidad filogenética, por ejemplo, el tiempo relativo que ha transcurrido entre dos representantes relacionados procedentes de un ancestro común.

Es interesante señalar que en contraste a taxones filogenéticamente bien definidos, aquellos que están fundamentados en una descripción fenotípica carecen de auténtica profundidad. La definición de taxón de acuerdo a reflexiones anteriores asume que las

propiedades fenotípicas de sus miembros tienen que ser uniformes aunque la estructura subyacente de estos genes utilizados para el análisis filogenético (y probablemente de otros genes) puede variar de una forma significativa.

Actualmente, para los genes rRNA 16S, el grado de variación entre los miembros de un género puede oscilar entre valores que están por encima del 95% (es el caso de los estreptomicetos), hasta valores mucho más significativos (alrededor el 78% para espiroquetas).

Aunque aún resulta imposible correlacionar la divergencia en secuencias de un gen determinado en función del tiempo, la edad relativa de un taxón puede determinarse por su posición en un árbol con relación a otro taxón.

Stackebrandt, en 1988, con un criterio práctico, agrupó a los principales grupos bacterianos en tres categorías denominadas *grupos de edad* con unas descripciones básicas:

- Los miembros del primer grupo de edad han surgido durante la fase anaeróbica de la evolución. Las especies descritas en este grupo suelen encontrarse bien separadas, como se demuestra mediante la hibridación DNA/DNA. Se han encontrado géneros representativos de este grupo en algunas familias de bacterias metanogénicas, así como en los casos de *Bacteriodes*, *Spirochaeta* y *Clostridium* y otras líneas que precisan reclasificarse. Se ha de tener presente que años atrás se tenía en cuenta una selección subjetiva de ciertos rasgos fenotípicos usados para la descripción de un taxón, por ejemplo, una selección adecuada de algunos parámetros, como la existencia de un proceso fermentativo, la formación de esporas, coloración de Gram, morfología, etc., que no permiten una determinación taxonómica exacta de la bacteria que se estudia. En este sentido es interesante señalar que ciertos rasgos fenotípicos han permanecido inalterables durante millones de años.
- El segundo *grupo de edad* estaría constituido por aquellos géneros cuyos ancestros evolucionaron durante el periodo de transición en el que la Tierra experimentó el tránsito desde un ambiente anaeróbico hasta el aeróbico. Los

descendientes de este grupo son anaeróbicos facultativos o aeróbicos. En algunos casos las especies están escasamente relacionadas. Su existencia se justificaría en función de una evolución más rápida por parte de algunos representantes, aunque en realidad no hay una razón rigurosa para entender esta situación. Ejemplos de este grupo pueden encontrarse en *Bacillus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Propionibacterium*.

- Finalmente, los miembros pertenecientes al tercer *grupo de edad* han evolucionado probablemente durante la fase aeróbica de la evolución. Los géneros no son muy profundos desde el punto de vista taxonómico porque aún en especies muy distantes existe una importante relación. En algunos casos varios géneros relativamente relacionados pueden separarse entre sí por una combinación de marcadores quimiotaxonómicos. La presencia de distintos fenotipos pertenecientes a géneros próximos es un índice de una rápida evolución a nivel del DNA. Excelentes ejemplos de esta reflexión pueden ser los casos de *Streptomyces*, *Actinomadura* y *Microbispora*, pero también en los casos de *Staphylococcus*, *Listeria* y Gram negativas como *Vibrio*, *Shewanella*, *Listonella*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Blastobacter* y *Brucella*.

Finalmente, y para no prolongar excesivamente esta introducción, debe señalarse brevemente la última tendencia que ha aportado la genómica al reconocimiento de microorganismos que no han podido ser cultivados y que representan un auténtico desafío para lograr su ubicación taxonómica.

Este planteamiento parte de publicaciones que han surgido a partir de los últimos veinte años y que, como es lógico, han producido una alteración importante en diversos capítulos de la microbiología. Hay zonas del conocimiento, sobre todo aquellas que se refieren al ciclo de los elementos que están relacionadas con microorganismos desconocidos integrados en consorcios.

Es a partir de la década de los ochenta cuando aparecen recomendaciones de varios microbiólogos que recomiendan la introducción de genómica en el área de la taxonomía. Nuevos conceptos taxonómicos deben substituir paulatinamente a otros que se han empleado tradicionalmente. De esta forma, estudiando las huellas

moleculares de estos microorganismos no cultivables se han creado nuevas líneas de investigación que sitúan provisionalmente a estos nuevos fenotipos virtuales en nuevas especies e incluso *phylums* del mundo procariota.

En este sentido cabe destacar al grupo de investigadores del Proyecto Base de Datos Ribosómicos (RDP) que ya han logrado secuenciar cien mil casos del gene 16S. El número de las secuencias conocidas se ha duplicado en los últimos meses. El valor de este archivo de datos es impresionante y permite llevar a cabo un estudio comparado entre numerosos microorganismos. A mediados de noviembre de 2004 ya se disponía de bases de datos completos para 168 organismos procariotas, 18 eran arqueobacterias y 150 bacterias. Fox (2005), en un artículo, hace referencia a los datos aportados por Norman Pace, en los que señala que esta progresión en el conocimiento de la taxonomía ha conducido a un avance tal que en 1987 se reconocían 12 Divisiones, con representantes cultivables en todas ellas, mientras que en el año 2004 ya se hablaba de 80 divisiones bacterianas y sólo 26 contenían representantes cultivables. Es claro que a partir de los datos obtenidos de las secuencias es posible construir clases naturales y evitar que la clasificación de los seres vivos en general, y de las bacterias en particular, se apoye exclusivamente en datos proporcionados por algunas propiedades físicas y químicas que conducen a una clasificación bacteriana muy sesgada, carente de metodología rigurosa.

En definitiva el procedimiento basado en el estudio de la secuencia genética del RNA ribosómico puede emplearse como huella digital para el estudio de microorganismos. Es la clave para el conocimiento histórico de una bacteria que permite el acceso a otros datos. Uno de los editores del Manual Bergey afirma que el conocimiento del rRNA 16S actualmente es un ensayo que posee la misma profundidad taxonómica de la coloración de Gram.

Figura 2.8. Diagrama que refleja la reciente expansión en el número de divisiones filogenéticas conocidas. No se han resuelto relaciones específicas entre las divisiones bacterianas. El alcance de la diversidad conocida aumenta rápidamente debido al reconocimiento de representantes ambientales no cultivables (Fox, 2005).

